

19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

12 Offenlegungsschrift
10 DE 198 23 876 A 1

21 Aktenzeichen: 198 23 876.2
22 Anmeldetag: 28. 5. 98
43 Offenlegungstag: 2. 12. 99

51 Int. Cl.⁶:
C 07 B 61/00
C 07 H 21/04
C 07 H 1/00
G 01 N 33/50
G 01 N 33/68
G 01 N 30/00
C 12 N 15/10

DE 198 23 876 A 1

71 Anmelder:
Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH, 55129 Mainz,
DE

72 Erfinder:
Ehrfeld, Wolfgang, Prof. Dr., 55124 Mainz, DE;
Weber, Lutz, Dr., 55288 Gabsheim, DE

56 Entgegenhaltungen:
US 56 58 734

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

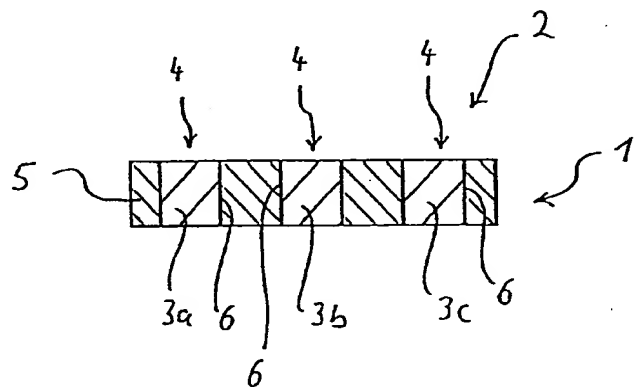
Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

54 Mit unterschiedlichen Verbindungen beladenes Bauteil (Biochip) sowie Verfahren zu dessen Herstellung

57 Die Erfindung betrifft ein Bauteil (Biochip), dessen Oberfläche in räumlich voneinander getrennten Bereichen mit unterschiedlichen Verbindungen, insbesondere Biomoleküle, beladen ist, sowie ein Herstellungsverfahren für solche Bauteile. Mit Oligonukleotiden beladene Biochips werden beispielsweise zur DNA-Sequenzierung eingesetzt.

Das erfindungsgemäße Bauteil ist dadurch gekennzeichnet, daß die räumlich voneinander getrennten Bereiche von einzelnen Körpern (3a, 3b, 3c), deren Stirnflächen (4) mit unterschiedlichen Verbindungen beladen sind, gebildet sind, wobei die Körper (3a, 3b, 3c) mit einem gemeinsamen Träger (5) verbunden sind.

Das zugehörige Verfahren umfaßt im ersten Schritt das Beladen der Oberfläche von mindestens einem Substrat mit jeweils mindestens einer Verbindung. Im zweiten Schritt erfolgt das Heraustrennen mindestens eines Körpers aus dem Substrat, wobei der Körper einen Bereich der beladenen Oberfläche aufweist. Im letzten Schritt wird der herausgetrennte Körper (3a) mit einem Träger (5) verbunden. Die letzten beiden Schritte werden mit unterschiedlichen Verbindungen beladenen Substraten wiederholt, bis alle Körper in den Träger (5) eingefügt sind.



DE 198 23 876 A 1

Die Erfindung betrifft ein Bauteil (Biochip), dessen Oberfläche in räumlich voneinander getrennten Bereichen mit unterschiedlichen Verbindungen, insbesondere Biomolekülen, beladen ist, sowie ein Verfahren zu dessen Herstellung.

Solche mit unterschiedlichen Verbindungen beladenen Biochips dienen in der Biotechnologie zum Nachweis von Substanzen durch deren räumlich spezifische Anlagerung. So können beispielsweise mit unterschiedlichen Aminosäuresequenzen beladene Biochips zum spezifischen Nachweis von Antikörpern verwendet werden. Weiterhin kann mit Hilfe von mit unterschiedlichen DNA-Sequenzen beladenen Biochips eine DNA-Sequenzierung vorgenommen werden, da sich einzelsträngige DNA-Abschnitte an komplementäre Abschnitte anlagern (hybridisieren).

G. Wallraff et. al. (Chemtech Febr. 1997, 22) beschreiben unterschiedliche Herstellungsverfahren von Biochips zur DNA-Sequenzierung. Diese Biochips bestehen aus einem ebenen Träger, beispielsweise aus Glas, der auf seiner Oberfläche in eng benachbarten Bereichen einer Dichte von bis zu 10^6 pro cm^2 sich in der Sequenz unterscheidende Oligonukleotide trägt. Die Nukleotidsequenzen werden an die entsprechenden Bereiche der Oberfläche des Trägers gekoppelt bzw. dort synthetisiert, wobei die übrigen Bereiche zu schützen sind, was mit einem hohen Aufwand verbunden ist.

Nach einem dort beschriebenen Verfahren werden fertig synthetisierte Oligonukleotide mittels Feinstdosierung an bestimmte Stellen der Oberfläche eines Substrats gebracht und dort kovalent gebunden. Nachteilig hierbei ist, daß bei zunehmender Dichte der aufzubringenden Sequenzen pro Substratfläche durch Kontamination benachbarter Bereiche die notwendige Reinheit der Sequenzen nicht gewährleistet ist.

Nach einem anderen Verfahren werden die Nukleotid-Sequenzen auf dem Substrat unter Verwendung photolabiler Schutzgruppen synthetisiert. Durch den Einsatz von aus der Photolithographie bekannten Maskentechniken werden die Schutzgruppen dort abgespalten, wo Nukleotid-Sequenzen aufgebaut werden sollen. Bei einer hohen Dichte unterschiedlicher Sequenzen bezogen auf die Substratfläche führt jedoch beispielsweise Streulicht zu einer unerwünschten Abspaltung von Schutzgruppen in unbelichteten Regionen des Substrats und damit zu einer Ankoppelung von Nukleotiden in Regionen die eigentlich geschützt sein sollten.

Gemäß eines weiteren Verfahrens wird ein Photoresist und eine Schicht zwischen der Substratoberfläche und dem Resist eingesetzt. Über Belichtungs- und Entwicklungsschritte werden Orte, an denen ein Sequenzaufbau stattfinden soll, gezielt freigelegt. Nachteilig hierbei ist jedoch der mit den Prozeßschritten verbundene hohe Aufwand, die thermische Beeinträchtigung der Nukleotide sowie unerwünschte Nebenreaktionen.

Aufgabe der Erfindung ist es, ein Bauteil (Biochip) zur Verfügung zu stellen, dessen Oberfläche in räumlich voneinander getrennten Bereichen mit unterschiedlichen Verbindungen, insbesondere Biomolekülen, beladen ist, bei dem die Verbindungen in hoher Reinheit begrenzt auf die jeweiligen Bereiche vorliegen, und das eine kostengünstige Herstellung in großen Stückzahlen erlaubt. Weiterhin ist Aufgabe der Erfindung, ein entsprechendes Herstellungsverfahren für ein solches Bauteil (Biochip) mit den genannten Vorteilen bereitzustellen.

Die Aufgabe wird durch ein Bauteil mit den Merkmalen des Anspruchs 1 sowie durch ein Verfahren mit den Merkmalen des Anspruchs 10 gelöst. Die abhängigen Ansprüche betreffen vorteilhafte Ausgestaltungen des erfindungsgemä-

Ben Bauteils und Verfahrens.

Bei dem erfindungsgemäßen Bauteil (Biochip) sind die räumlich voneinander getrennten Bereiche von einzelnen Körnern, deren Stirnflächen mit unterschiedlichen Verbindungen beladen sind, gebildet, wobei die Körper mit einem gemeinsamen Träger verbunden sind.

Der der Erfindung zugrundeliegende Gedanke ist, daß die Synthese unterschiedlicher Verbindungen nicht auf dem Biochip, sondern auf einem Substrat oder mehreren voneinander getrennten Substraten erfolgt, und daß Teile aus diesen Substraten herausgetrennt und mit einem Träger verbunden werden. Hierdurch kann keine Kontamination benachbarter Bereiche auf dem Biochip stattfinden. Da aus jedem Substrat viele Körper herausgetrennt werden können, sind diese Biochips kostengünstig in großen Stückzahlen herstellbar.

Bei dem erfindungsgemäßen Bauteil (Biochip) sind die mit vorzugsweise unterschiedlichen Verbindungen beladenen Bereiche von einzelnen Körpern gebildet, die mit einem Träger verbunden sind. Nach einer Ausführungsform sind die Körper mit der Oberseite des Trägers verbunden, beispielsweise geklebt. Nach einer anderen Ausführungsform umfaßt der Träger jeden Körper, zumindest teilweise, seitlich. Hierzu weist der Träger vorzugsweise ein- oder beidseitig offene Ausnehmungen auf, die die einzelnen Körper aufnehmen und seitlich umfassen können. Bevorzugt besteht der Träger aus einer ein- oder mehrlagigen Folie einer Dicke < 1 mm.

Bevorzugt weisen die einzelnen Körper eine mit mindestens einer Verbindung beladene Stirnfläche $< 1 \text{ mm}^2$ und einen parallel zur Stirnfläche runden oder n-eckigen Querschnitt auf. So können bei mehr als 10 Bereichen unterschiedlicher Verbindungen pro cm^2 Biochipfläche die Körper, beispielsweise in Form eines Stüfens oder Kegelstumpfes, einen runden Querschnitt mit einem Durchmesser $< 100 \mu\text{m}$ aufweisen. Die durch die Lage der Ausnehmungen im Träger vorgegebenen Abstände der Körper liegen bei vorzugsweise < 1 mm, wobei die Abstände im Hinblick auf die Stabilität des Trägers auf den Durchmesser der Körper abzustimmen ist. So erlauben beispielsweise Körper mit einem Durchmesser von $100 \mu\text{m}$ Abstände von etwa $200 \mu\text{m}$.

Nach einer Ausführungsform der Erfindung fluchten die beladenen Stirnflächen der Körper mit der Oberfläche des Trägers. Es ist jedoch auch möglich, die Körper über die Trägersoberfläche hinausragen zu lassen. Weiterhin ist es möglich, die Körper so innerhalb der Ausnehmungen zu positionieren, daß deren beladene Stirnflächen unter der Trägersoberfläche liegen. Werden die Körper seitlich formschlüssig umfaßt so bilden die Seitenwände der Ausnehmung des Trägers und die Stirnfläche des Körpers ein nach oben offenes Behältnis in der Art eines in der Biotechnologie üblichen Mikrolitergefäßes.

Vorzugsweise bestehen die Körper und/oder der Träger aus einem oder mehreren Kunststoffen, zum Beispiel aus einem Polypropylen oder Polycarbonat. Die Körper und/oder der Träger können jedoch aus einem anderen Material, wie Glas, bestehen. Es kann, beispielsweise für die Herstellung oder Aufbringung von Proben, von Vorteil sein, wenn die Körper und/oder der Träger aus mindestens einem optisch transparenten Material bestehen.

Es kann vorteilhaft sein, die Oberfläche des Trägers und/oder die Stirnflächen der Körper so, beispielsweise chemisch oder physikalisch, zu behandeln, daß die Benetzbarkeit verändert wird. Beispielsweise kann es von Vorteil sein, daß die Oberfläche des Trägers schwer benetzbar und die Stirnflächen der Körper leicht benetzbar sind. Weiterhin kann es vorteilhaft sein, die Oberfläche, beispielsweise durch Mikrostrukturierung, zu vergrößern, um eine höhere

Beladungsdichte, d. h. Menge an Biomolekülen pro Substratfläche, zu erreichen.

Je nach dem Einsatzgebiet können die von dem Träger erfaßten Körper an ihrer Stirnfläche Verbindungen unterschiedlicher Klassen, insbesondere Biomoleküle tragen. So bietet sich zum Einsatz in biochemischen Nachweisverfahren die Verwendung kurz-, mittel- oder langkettiger Polymere von Aminosäuren, Nucleotiden oder/und Derivate dieser Verbindungen an.

Nach dem erfindungsgemäßen Verfahren umfaßt die Herstellung eines Bauteils (Biochip), dessen Oberfläche in räumlich voneinander getrennten Bereichen mit unterschiedlichen Verbindungen, insbesondere Biomolekülen, beladen ist, folgende drei Schritte:

Im ersten Schritt wird die Oberfläche mindestens eines Substrats mit jeweils mindestens einer Verbindung beladen. Bevorzugt geeignete Substrate hierzu sind ein- oder mehrlagige dünne Folien einer Dicke < 1 mm, insbesondere < 500 μ m.

Es kann vorteilhaft sein, zumindest die zu beladende Oberfläche des Substrats zur Verbesserung der Bindung mechanisch, physikalisch und/oder chemisch zu behandeln. Die Verbindungen können physikalisch oder/und chemisch an die gegebenenfalls vorbehandelte Substratoberfläche gebunden werden.

Gemäß einer Ausführungsform sind die im zweiten Schritt herauszutrennenden Körper einstückiger Bestandteil des Substrats. So können die herauszutrennenden Körper Erhebungen, beispielsweise in Form von Säulen, auf der Substratoberfläche darstellen. Zur Vereinfachung des Herausreitens können im Bereich der herauszutrennenden Körper Sollbruchstellen vorgesehen sein.

Gemäß einer anderen Ausführungsform umfaßt das Substrat die im zweiten Schritt herauszutrennenden Körper seitlich formschlüssig. Bevorzugt eignet sich zur Herstellung solch eines Substrats folgendes in drei Schritte gegliedertes Verfahren:

a1) Auf einer Grundplatte erfolgt die Formgebung der Körper, wobei die Grundplatte und die Körper vorteilhaft gleichzeitig hergestellt werden. Zur getrennten oder gleichzeitigen Herstellung der Körper bzw. der Körper und der Grundplatte eignen sich Verfahren, wie Spritzgießen, Reaktionsgießen, Heißprägen, spanende Verfahren, Laserablationsverfahren, Ätzverfahren oder Kombinationen dieser Verfahren.

a2) Die sich auf der Grundplatte befindenden Körper werden mit einem sich verfestigenden Formstoff, wie einem Kunststoff, Paraffin oder Wachs, eingegossen. Es kann vorteilhaft sein, die Körper vor dem Eingießen zu beschichten, um das spätere Herausretrennen zu erleichtern.

a3) Die Grundplatte wird entfernt. Befindet sich über den Körpern Formstoff, so kann dieser auch entfernt werden, beispielsweise durch Schleifen, Läppen, Fräsen oder Polieren.

Im zweiten Schritt des erfindungsgemäßen Verfahrens wird mindestens ein Körper aus dem Substrat herausgetrennt, wobei der Körper Bereiche der beladenen Oberfläche aufweist. Das Herausretrennen kann beispielsweise durch Herausdrücken, -brechen, Stanzen oder Schneiden erfolgen. Umfaßt das Substrat die herauszutrennenden Körper seitlich, so bietet sich einfaches Herausdrücken an. So kann unter Anwendung von Unterdruck mittels eines von der Unterseite des Substrats ansetzenden Greifwerkzeugs der Körper nach unten aus dem Substrat herausgetrennt werden. Vorteilhaft hierbei ist, daß die mit mindestens einer Verbindung beladene, sich auf der Oberfläche des Substrats befindende Stirnfläche des Körpers nicht beschädigt wird.

Der herausgetrennte Körper kann in dem Greifwerkzeug

verbleiben oder in ein Magazin überführt werden.

Nach einer weiteren Ausführungsform stellt das Substrat eine Folie dar, aus der die Körper mittels eines Stanz- oder Schneidwerkzeugs herausgetrennt und vorzugsweise gleichzeitig mit dem Träger verbunden werden. Hierzu ist es vorteilhaft, wenn die Seite der Substratfolie, die der beladenen Seite des Substrats gegenüberliegt und mit der Oberseite des Trägers verbunden wird, mit einer Klebstoffschicht versehen ist.

Im letzten Schritt des Verfahrens wird der herausgetrennte Körper mit einem Träger verbunden. So kann der Körper in einen entsprechende Ausnehmungen aufweisen den Körper, beispielsweise mittels eines Greifwerkzeugs, eingefügt werden oder mit der Oberseite des Trägers, beispielsweise durch Kleben, verbunden werden.

Vorteilhaft werden der zweite und der letzte Schritt gleichzeitig durchgeführt. Wird der Körper beispielsweise seitlich formschlüssig von dem Substrat umfaßt, so wird hierzu das Substrat von unten so an den Träger herangeführt, daß der herauszutrennende Körper genau unterhalb der entsprechenden Ausnehmung des Trägers zu liegen kommt. Nun wird beispielsweise mittels eines Stempels mit einem Durchmesser kleiner gleich dem Durchmesser des herauszutrennenden Körpers der Körper aus dem Substrat herausgedrückt und gleichzeitig in die entsprechende, zur Ober- und Unterseite offene Ausnehmung des Trägers hineingedrückt. Hierzu ist es vorteilhaft, wenn die Körper im Substrat die gleiche räumliche Anordnung wie die Ausnehmungen im Träger aufweisen, da hierbei keine unterschiedliche relative Positionierung von dem Substrat zu dem Träger erforderlich ist, sondern nur eine Positionierung beispielsweise des Stempels zu erfolgen braucht, um einen bestimmten Körper in die genau gegenüberliegende Ausnehmung einzufügen.

Der zweite und der dritte Verfahrensschritt werden mit Substraten, vorzugsweise mit unterschiedlichen Verbindungen beladen, so oft wiederholt, bis der Träger alle Körper mit den gewünschten Verbindungen aufweist.

Beispielsweise zur Kontrolle bei analytischen Anwendungen kann es vorteilhaft sein, mehr als einen Körper mit der gleichen Verbindung in einen Träger einzufügen.

Da in der Regel aus den Substraten mehrere Körper herausgetrennt werden können, kann nach diesem Verfahren eine große Anzahl gleichartiger Biochips mit einfachen Mitteln hergestellt werden.

Beispielhafte Ausgestaltungen des erfindungsgemäßen Bauteils (Biochip) und Verfahrens werden anhand der folgenden schematischen Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1a ein erfindungsgemäßes Bauteil (Biochip) in perspektivischer Darstellung,

Fig. 1b das in Fig. 1a dargestellte Bauteil im Querschnitt von der Seite,

Fig. 2a ein Substrat mit seitlich formschlüssig erfaßten Körpern in perspektivischer Darstellung,

Fig. 2b das in Fig. 2a dargestellte Substrat im Querschnitt von der Seite,

Fig. 3 das in Fig. 2b dargestellte Substrat beim Herausretrennen eines Körpers im Querschnitt von der Seite,

Fig. 4 den entsprechend der Darstellung nach Fig. 3 herausgetrennten Körper beim Einfügen in einen Träger im Querschnitt von der Seite,

Fig. 5a ein Substrat mit herauszutrennenden Körpern in Form von Erhebungen in perspektivischer Darstellung,

Fig. 5b das in Fig. 5a dargestellte Substrat im Querschnitt von der Seite,

Fig. 6 das in Fig. 5b dargestellte Substrat beim Einfügen eines Körpers in einen Träger im Querschnitt von der Seite,

Fig. 7a eine Grundplatte mit Körpern in perspektivischer

Darstellung,

Fig. 7b die Grundplatte nach Fig. 7a im Querschnitt von der Seite,

Fig. 8 die Grundplatte nach Fig. 7b mit eingegossenen Körpern im Querschnitt von der Seite,

Fig. 9 das nach der Entfernung der Grundplatte und des überschüssigen Formstoffes erhaltene Substrat im Querschnitt von der Seite,

Fig. 10a ein weiteres erfindungsgemäßes Bauteil (Biochip) in perspektivischer Darstellung,

Fig. 10b den Biochip nach Fig. 10a im Querschnitt von der Seite,

Fig. 11a und b einen Träger und ein Substrat vor und nach dem Heraustrennen und Verbinden eines Körpers im Querschnitt von der Seite.

In Fig. 1a ist ein erfindungsgemäßes Bauteil 1 (Biochip) mit 3×3 mit einem Träger 5 verbundenen Körpern 3a, 3b, ... schematisch dargestellt. Die Stirnfläche 4 jedes Körpers 3a, 3b, ... ist mit mindestens einer Verbindung beladen, was hier nicht dargestellt ist. Die Stirnflächen 4 fluchten mit der Oberfläche 2 des Trägers 5. Das Bauteil 1 ist in Fig. 1b im Querschnitt von der Seite dargestellt. Die einzelnen Körper 3a, 3b, ... in der Form von Stiften sind so in zur Ober- und Unterseite des Trägers 5 offenen Ausnehmungen 6 enthalten, daß der Träger 5 die Körper 3a, 3b, ... seitlich formschlüssig umfaßt. Der Übersicht halber ist das Bauteil hier nicht maßstabsgetreu und nur mit einer kleinen Anzahl an einzelnen Körpern dargestellt. Ein erfindungsgemäßes Bauteil weist beispielsweise die Abmessungen von $3 \text{ cm} \times 3 \text{ cm} \times 500 \mu\text{m}$ auf, wobei in den Träger 100×100 zylindrische Körper eines Durchmesser von $100 \mu\text{m}$ und einer Höhe von $500 \mu\text{m}$ in einem Abstand von etwa $200 \mu\text{m}$ in der Art von Zeilen und Spalten einer Matrix angeordnet sind. In diesem Beispiel bestehen der Träger und die Körper aus Polypropylen, wobei auf die obere Stirnfläche der Körper unterschiedliche Oligonukleotidsequenzen kovalent gebunden sind.

In Fig. 2a ist ein Substrat 10 in der Form einer Folie dargestellt, wobei das Substrat 10 sechs gleichartige Körper 3a umfaßt. Die gesamte Oberfläche 11 des Substrats, einschließlich der oberen Stirnflächen 4 der Körper 3a, ist mit einer Oligonukleotidsequenz beladen. Aus Fig. 2b ist ersichtlich, daß die Körper 3a seitlich formschlüssig vom Substrat 10 umfaßt sind.

In Fig. 3 ist der Schritt des Heraustrennens eines Körpers 3a aus dem Substrat 10 schematisch dargestellt. Angedeutet ist der Kopf eines Sauggreifers 12, der mit Hilfe von Unterdruck mit der Unterseite eines Körpers 3a verbunden ist. Der Sauggreifer wird nach unten bewegt, wodurch der Körper 3a aus dem randseitig gehaltenen Substrat 10 herausgezogen wird. Dadurch, daß der Sauggreifer von der Unterseite des Substrats 10 angreift, wird die mit einer Oligonukleotidsequenz beladene Stirnfläche 4 nicht beschädigt.

Das Einfügen des herausgetrennten Körpers 3a in einen Träger 5 ist in Fig. 4 schematisch dargestellt. Der Körper 3a befindet sich auf dem Kopf des Sauggreifers 12 und wird von unten in eine Ausnehmung 6 des Trägers 5 hineingedrückt. Dieser Schritt wird mit weiteren Körpern aus unterschiedlichen Substraten wiederholt, bis alle Ausnehmungen 6 des Trägers 5 einen Körper 3a, 3b, ... aufweisen.

In Fig. 5a ist ein Substrat nach einer anderen Ausführungsform schematisch dargestellt. Das Substrat 15 wird von einer Folie mit säulenartigen, aus der Oberseite herausragenden Erhebungen 17 gebildet. Im Querschnitt von der Seite (Fig. 5b) ist ersichtlich, daß das Substrat 15 im Bereich um die Erhebungen 17 so verjüngt ist, daß Sollbruchstellen 16 vorliegen. Zumindest die Stirnflächen 4 der durch die Erhebungen 17 gebildeten Körper 3a sind mit mindestens einer Verbindung (hier einer Oligonukleotidsequenz) beladen.

Der Schritt des Heraustrennens und Einfügens eines Körpers mit dem in Fig. 5a und 5b dargestellten Substrat 15 ist in Fig. 6 gezeigt. Das Substrat 15 ist so unterhalb des Trägers 5 positioniert, daß ein Körper 3a genau unterhalb einer Ausnehmung 6 zu liegen kommt. Mittels eines Stempels 18 wird der Körper 3a aus dem randseitig gehaltenen Substrat 15 direkt in die Ausnehmung 6 des Trägers 5 hineingedrückt. An den verjüngten Stellen (Sollbruchstellen 16) im unteren Bereich des Substrats 15 erfolgt der Abriß des nach oben gedruckten Körpers 3a vom randseitig gehaltenen Substrat 15. Anschließend wird der herausgetrennte Körper 3a so vollständig mit dem Stempel 18 in die Ausnehmung 6 des Trägers gedrückt, daß die Stirnfläche 4 des Körpers 3a mit der Trägeroberfläche 2 fluchtet. Dieser Schritt wird mit weiteren Körpern aus unterschiedlichen Substraten wiederholt, bis alle Ausnehmungen 6 des Trägers 5 einen Körper 3a, 3b, ... aufweisen. Der in Fig. 6 dargestellte Schritt des Heraustrennens und Verbindens kann beispielsweise auch mit einem in Fig. 2b dargestellten Substrat durchgeführt werden.

Die Fig. 7a bis 9 stellen die Schritte eines Verfahrens zur Herstellung des in Fig. 2a und 2b dargestellten Substrats 10 dar, das die einzelnen Körper 3a seitlich formschlüssig umfaßt. Im ersten Schritt wird eine Grundplatte 20 hergestellt, die auf ihrer Oberseite zylindrische Körper 21 aufweist. Die Herstellung erfolgt mittels Spritzguß unter Verwendung mikrotechnisch gefertigter Formeinsätze. In Fig. 7a ist die strukturierte Grundplatte 20 in Draufsicht, in Fig. 7b seitlich im Querschnitt schematisch dargestellt. Im zweiten Schritt wird die strukturierte Oberfläche der Grundplatte 20 mit einem Formstoff 22 überschichtet, der die Körper 21 zumindest seitlich bedeckt. Nach der Verfestigung des Formstoffs 22 wird im letzten Schritt die Grundplatte 20 entfernt und der über den Körpern 21 befindliche Formstoff 22 abgetragen. Das so erhaltene Substrat 10 weist eine ebene Ober- und Unterseite auf, wobei die Körper 21 seitlich formschlüssig vom Formstoff 22 umfaßt sind. Zum Einsatz im erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung von Biochips wird die gegebenenfalls vorbehandelte Oberseite des Substrats 10 mit mindestens einer Verbindung beladen.

Die Fig. 10a und 10b stellen einen Biochip 31 dar, der einen Träger 35 umfaßt, mit dessen Oberseite 32 mehrere Körper 33a, 33b, ... verbunden sind. Die Stirnflächen 34 der Körper 33a, 33b, ... sind mit unterschiedlichen Verbindungen beladen.

In Fig. 11a ist ein Träger 35 und beabstandet ein Substrat 40 sowie ein Schneidwerkzeug 45 dargestellt. Nach einem Ausführungsbeispiel besteht der Träger 35 aus einer Folie einer Dicke von $500 \mu\text{m}$, das Substrat 40 aus einer Folie einer Dicke von $100 \mu\text{m}$ und das Schneidwerkzeug 45 weist eine kreisrunde Schneide mit einem Durchmesser von $100 \mu\text{m}$ auf. Das Substrat 40 kann beispielsweise von einer Rolle zugeführt werden, wobei schon das aufgerollte Substrat mit einer Verbindung beladen ist oder erst nach dem Abrollen beladen wird.

In Fig. 11b ist der Träger 35 mit einem auf seiner Oberseite 32 verbundenen Körper 33a dargestellt. Hierzu wurde mittels des Werkzeugs 45 der Körper 33a aus dem Substrat 40 geschnitten und gleichzeitig auf die Oberseite 32 des Trägers 40 gedrückt. Die der mit einer Verbindung beladenen Seite 41 des Substrats 40 gegenüberliegende Seite, die der Oberseite 32 des Trägers 35 zugewandt ist, weist eine hier nicht dargestellte Klebstoffschicht auf. Dieser Vorgang des Heraustrennens und Verbindens kann gleichzeitig mit mehreren nebeneinander angeordneten Trägern 35 und unterschiedlichen Substraten 40 durchgeführt werden. Es ist auch denkbar, ein Substrat in der Form einer langen Folie zu verwenden, die an unterschiedlichen Stellen unterschiedliche Verbindungen aufweist.

Bezugszeichenliste

1 Biochip	
2 Oberseite beladen mit unterschiedlichen Verbindungen	
3a, 3b, 3c, ... Körper, beladen mit unterschiedlichen Verbindungen	5
4 Stirnfläche eines Körpers	
5 Träger	
6 Ausnehmung	
10 Substrat	10
11 beladene Oberfläche	
12 Sauggreifer	
15 Substrat	
16 Sollbruchstelle	
17 Erhebung	15
18 Stempel	
20 Grundplatte	
21 Körper	
22 Formstoff	
23 Substrat	20
31 Biochip	
32 Oberseite	
33a, 33b, 33c, ... Körper, beladen mit unterschiedlichen Verbindungen	
34 Stirnfläche des Körpers	25
35 Träger	
40 Substrat	
41 beladene Oberfläche	
45 Schneidwerkzeug	30

Patentansprüche

1. Bauteil (Biochip), dessen Oberfläche in räumlich voneinander getrennten Bereichen mit unterschiedlichen Verbindungen, insbesondere Biomolekülen, beladen ist, **dadurch gekennzeichnet**, daß die räumlich voneinander getrennten Bereiche von einzelnen Körpern (3a, 3b, ..., 33a, 33b, ...), deren Stirnflächen (4, 34) mit unterschiedlichen Verbindungen beladen sind, gebildet sind, wobei die Körper (3a, 3b, ..., 33a, 33b, ...) mit einem gemeinsamen Träger (5, 35) verbunden sind.
2. Bauteil (Biochip) nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Körper (33a, 33b, ...) mit der Oberseite (32) des Trägers (35) verbunden sind.
3. Bauteil (Biochip) nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger (5) die Körper (3a, 3b, ...) zumindest teilweise seitlich umfaßt.
4. Bauteil (Biochip) nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger (5, 35) ein- oder beidseitig offene Ausnehmungen (6) aufweist, in denen je ein Körper (3a, 3b, ..., 33a, 33b, ...) enthalten ist.
5. Bauteil (Biochip) nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die beladenen Stirnflächen (4, 34) der Körper (3a, 3b, ..., 33a, 33b, ...) im Vergleich zur Oberseite (2, 32) des Trägers (5, 35) zurückstehen, überstehen oder fluchten.
6. Bauteil (Biochip) nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die einzelnen Körper (3a, 3b, ..., 33a, 33b, ...) eine beladene Stirnfläche (4, 34) $< 1 \text{ mm}^2$ aufweisen.
7. Bauteil (Biochip) nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Körper (3a, 3b, ..., 33a, 33b, ...) zueinander einen Abstand $< 65 \text{ mm}$ aufweisen.
8. Bauteil (Biochip) nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger (5,

35) und/oder die Körper (3a, 3b, ..., 33a, 33b, ...) aus mindestens einem Kunststoff bestehen.

9. Bauteil (Biochip) nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindungen kurz-, mittel- oder langkettige Polymere von Aminosäuren, Nucleotiden oder/und deren Derivate sind.

10. Verfahren zur Herstellung eines Bauteils (Biochip), dessen Oberfläche in räumlich voneinander getrennten Bereichen mit unterschiedlichen Verbindungen, insbesondere Biomolekülen, beladen ist, das folgende Schritte umfaßt:

- a) Beladen der Oberfläche (11, 41) von mindestens einem Substrat (10, 40) mit jeweils mindestens einer Verbindung,
- b) Heraustrennen mindestens eines Körpers (3a, 33a) aus dem Substrat (10, 40), wobei der Körper (3a, 33a) einen Bereich der beladenen Oberfläche (11, 41) aufweist,
- c) Verbinden des herausgetrennten Körpers (3a, 33a) mit einem Träger (5, 35), wobei die Schritte b) und c) mit mit, vorzugsweise unterschiedlichen, Verbindungen beladenen Substraten wiederholt werden.

11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß als Substrat (10, 40) eine ein- oder mehrlagige Folie einer Dicke $< 1 \text{ mm}$ verwendet wird.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß eine Folie verwendet wird, bei der die Fläche, die der zu beladenden Seite (11, 41) gegenüber liegt, eine Klebstoffschicht trägt.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß ein Substrat (15, 40) mit herauszutrennenden Körpern (3a, 33a) in Form von Erhebungen (17) verwendet wird.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß ein Substrat (15, 40) mit im Bereich der herauszutrennenden Körper (3a, 33a) vorhandenen Sollbruchstellen (16) verwendet wird.

15. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß als Substrat (40) eine Schicht, die die herauszutrennenden Körper (3a, 33a) seitlich formschlüssig umfaßt, verwendet wird.

16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat mit den seitlich formschlüssig umfaßten Körpern durch folgende Verfahrensschritte hergestellt wird:

- a1) Formgebung der Körper (21) auf einer Grundplatte (20),
- a2) Eingießen mindestens der seitlichen Flächen der Körper (21) mittels eines sich verfestigenden Formstoffs (22),
- a3) Entfernen der Grundplatte (20) und/oder des die Körper (21) überdeckenden Formstoffs (22).

17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Körper (21) und die Grundplatte (20) gleichzeitig hergestellt werden.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß als Verbindungen kurz-, mittel- oder langkettige Polymere von Aminosäuren, Nucleotiden oder/und deren Derivate verwendet werden.

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß der Körper (3a, 33a) aus dem Substrat (10, 15, 40) durch Herausdrücken, -brechen, Stanzen oder/und Schneiden herausgetrennt wird.

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß beim Heraustrennen der

Körper (3a, 33a) von einem Greifwerkzeug (12) oder einem Magazin erfaßt wird.

21. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß ein Träger (5, 35) mit ein- oder beidseitig offenen Ausnehmungen (6) verwendet wird. 5

22. Verfahren nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß die Ausnehmungen (6) die gleiche räumliche Anordnung wie die aus dem Substrat (10, 15) herauszutrennenden Körper (3a, 33a) aufweisen. 10

23. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß der herausgetrennte Körper (3a, 33a) mit der Oberseite (32) des Trägers (5, 35) verbunden wird.

24. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 22, 15 dadurch gekennzeichnet, daß der herausgetrennte Körper (3a, 33a) in eine Ausnehmung (6) des Trägers (5, 35) eingefügt wird.

25. Verfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß der Körper (3a, 33a) mit 20 Hilfe des Greifwerkzeugs (12) oder mit Hilfe einer Vorrichtung aus dem den Körper erfassenden Magazin in eine Ausnehmung des Trägers (5, 35) hineingedrückt wird.

26. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 25, 25 dadurch gekennzeichnet, daß der Körper (3a, 33a) aus dem Substrat (10, 15, 40) herausgetrennt und gleichzeitig mit dem Träger (5, 35) verbunden wird.

Hierzu 6 Seite(n) Zeichnungen

30

35

40

45

50

55

60

65

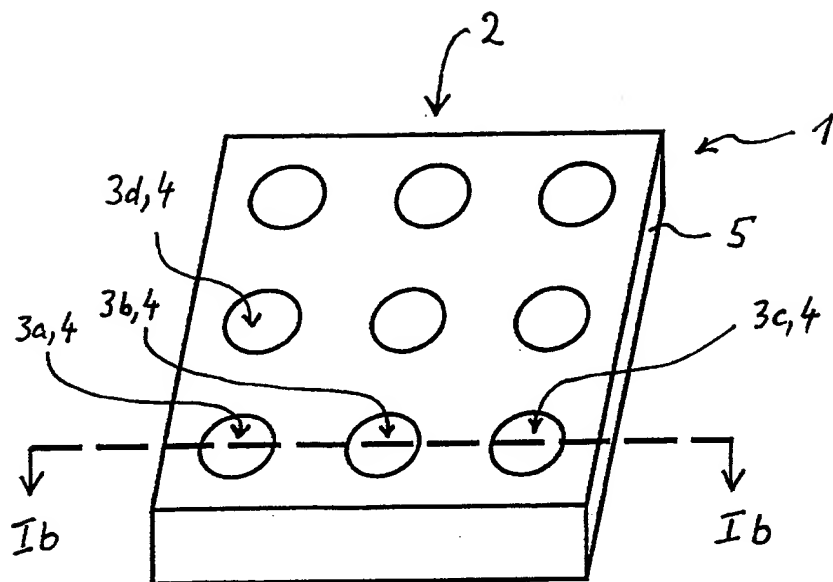


Fig. 1a

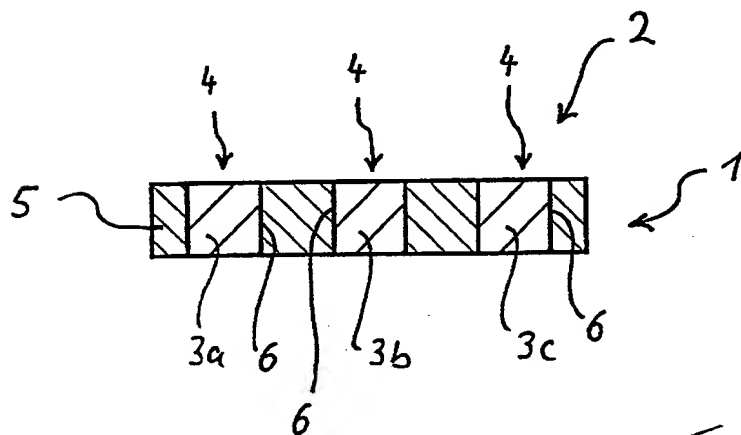


Fig. 1b

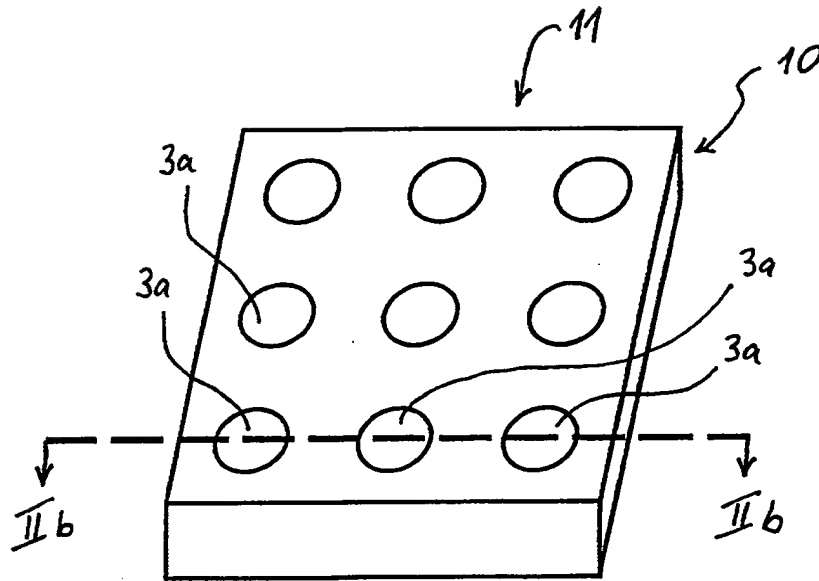


Fig. 2a

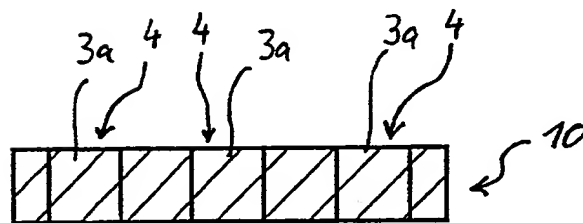


Fig. 2b

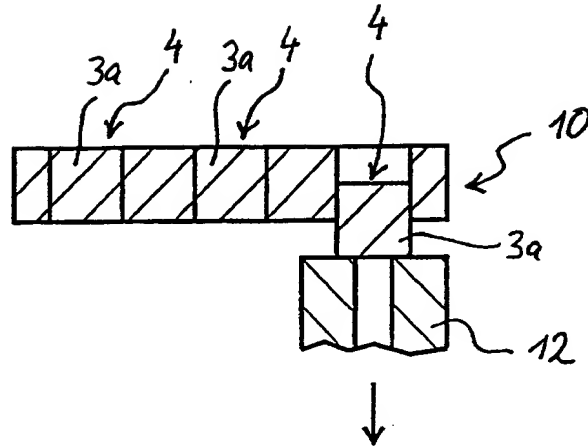


Fig. 3

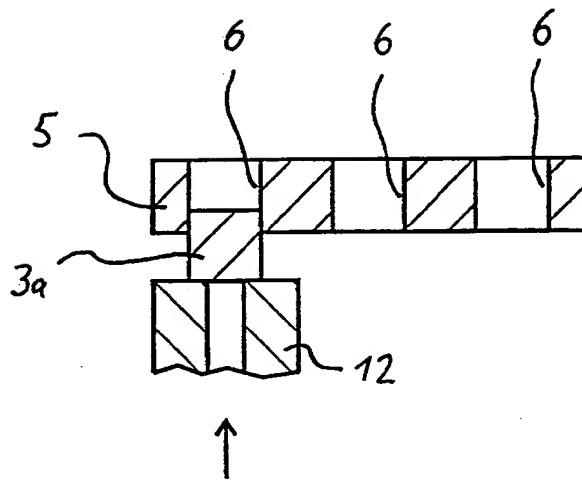


Fig. 4

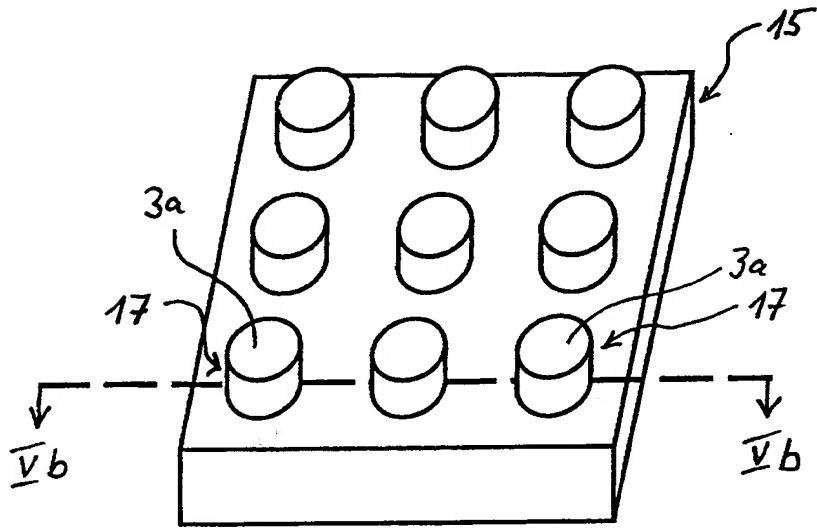


Fig. 5a

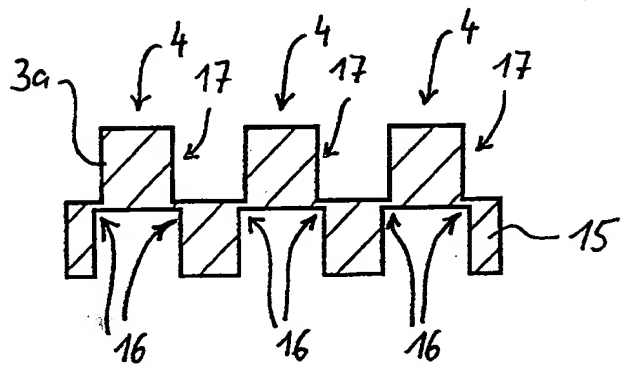


Fig. 5b

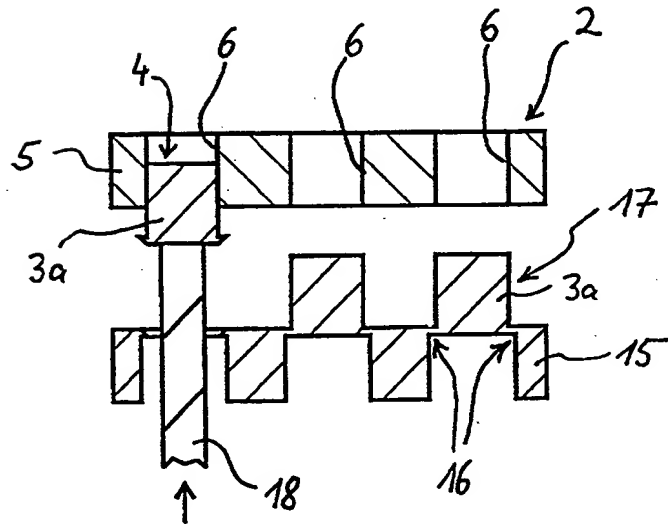


Fig. 6

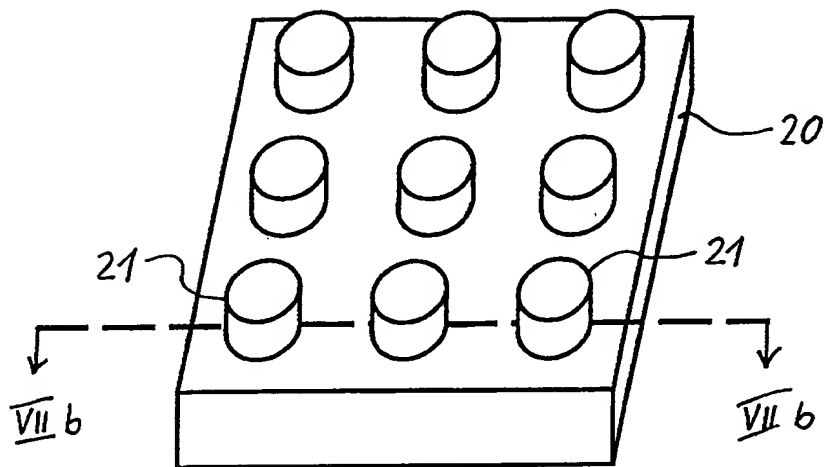


Fig. 7a

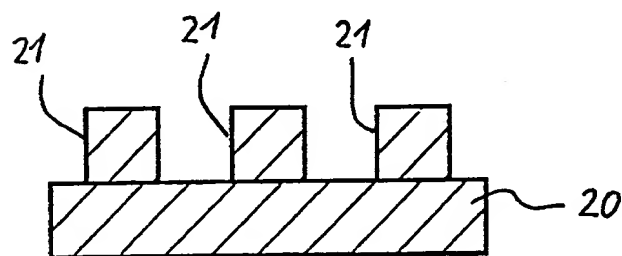


Fig. 7b

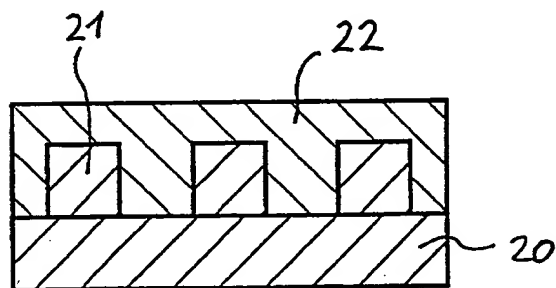


Fig. 8

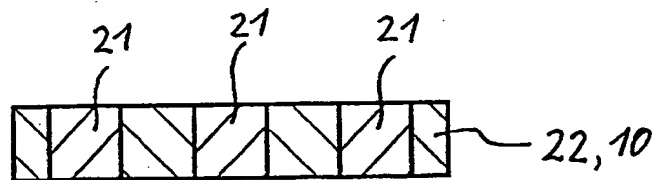


Fig. 9

